

# CÁNCER DE LA VESÍCULA BILIAR: ESTUDIOS NECESARIOS PARA EL DISEÑO DE ESTRATEGIAS DE PREVENCIÓN Y DIAGNÓSTICO PRECOZ

GALLBLADDER CANCER: NECESSARY STUDIES TO DESIGN STRATEGIES FOR  
PREVENTION AND EARLY DIAGNOSIS

DR. JUAN CARLOS ROA S. (1), DRA. CATERINA FERRECCIO R. (2), DR. JUAN FRANCISCO MIQUEL P. (3)

1. DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA, LABORATORIO DE PATOLOGÍA MOLECULAR. FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA.
2. DEPARTAMENTO DE SALUD PÚBLICA, PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE.
3. DEPARTAMENTO DE GASTROENTEROLOGÍA. PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE.

Email: jcroa@ufro.cl

FINANCIADO POR FONDECYT GRANT N° 1090171 A JCR; FONDECYT 1080325 Y CONICYT/BMBF N° 170-2009 A JFM.

## RESUMEN

*Chile tiene la mayor tasa de incidencia de cáncer de vesícula biliar (CVB) en el mundo (> 30 por 100.000). Siendo la principal causa de muerte por cáncer entre las mujeres chilenas.*

*Para diseñar estrategias de prevención y diagnóstico precoz del CVB hay que entender los factores etiológicos del proceso carcinogénico vesicular. Hay consenso que para el desarrollo de este cáncer concurren factores -genéticos, hormonales, infecciones crónicas, e inflamaciones crónicas asociadas a litiasis vesicular; y también que este cáncer ocurre en condiciones de pobreza. Desafortunadamente es insuficiente el conocimiento sobre la carcinogénesis vesicular, sobre el mecanismo de acción de los factores de riesgo clásicos y sobre cuáles son relevantes en la iniciación y promoción del CVB. En este artículo centramos la discusión en la litiasis vesicular, considerado el principal factor de riesgo del CVB. Se analiza las estrategias de prevención y control y se discuten los programas actuales. Finalmente se presentan dos estudios sobre factores de riesgo y de susceptibilidad*

*para CVB que están siendo implementados en Chile.*

*Palabras clave: Cáncer de la vesícula biliar; litiasis, susceptibilidad genética; factores etiológicos: prevención y detección precoz.*

## SUMMARY

*Chile has the highest gallbladder cancer (GBC) incidence rate in the world (>30 per 100,000 person-years) and is the leading cause of cancer deaths among Chilean women.*

*To design strategies of prevention and early diagnosis of GBC we must understand the etiological factors of the gallbladder carcinogenic process; There is consensus that in the development of this cancer concurs genetic and hormonal factors, infection, and chronic inflammation associated with lithiasis; and that is strongly associated with poverty conditions; But unfortunately there is not enough information about this process or how the classic*

*risk factors associated play a role in its development. There is also no information on which are important in the initiation and promotion of GBC. In this article we focus the discussion in gallstones, considered the main risk factor for GBC. We analyze some strategies of prevention and control and discuss some aspects of the current program. Finally we will point out two studies on risk factors and genetic susceptibility to GBC that are being implemented in Chile.*

*Key words: Gallbladder cancer; gallstones, genetic susceptibilities; etiological factors. Prevention and early detection.*

### MAGNITUD DEL PROBLEMA DEL CVB

El cáncer de la vesícula biliar (CVB) representa el 3% de los tumores malignos a nivel mundial y ocupa el quinto lugar de frecuencia entre las neoplasias malignas del tracto digestivo, después de los cánceres de estómago, colon, recto y esófago (1). Afecta a las mujeres 2 a 6 veces más que a los hombres y su incidencia aumenta progresivamente con la edad en ambos sexos (2-6). Las tasas de incidencia de CVB varían considerablemente por ubicación geográfica y origen étnico. En general, son más altas en países sudamericanos como Chile, Ecuador, Colombia y Uruguay; Europa oriental, en la República Checa, Eslovaquia y Polonia; Corea, India, China y la población Hispana en Estados Unidos (7).

Chile tiene la mayor tasa de incidencia de CVB en el mundo (> 30 por 100.000 hab.). Siendo la principal causa de muerte por cáncer entre las mujeres de chilenas y la cuarta causa de muerte por cáncer en los hombres después del cáncer de estómago, próstata y pulmón. A pesar del avance de la medicina y la cirugía sigue siendo un cáncer altamente letal en Chile con sobrevidas globales no superiores al 10% a cinco años, independientemente del lugar de atención (8, 9).

Por ello, es necesario diseñar estrategias de prevención y diagnóstico precoz del cáncer de vesícula biliar, lo que requiere entender los factores etiológicos del proceso carcinogénico vesicular. Desafortunadamente no hay suficiente información sobre este proceso ni sobre cómo actúan los factores de riesgo clásicos asociados a esta enfermedad (obesidad, hormonales, genéticos, litiasis, inflamación e infección crónica); tampoco hay información sobre cuáles son relevantes en la iniciación y cuáles en la promoción del cáncer de la vesícula biliar.

### OBJETIVOS DEL ARTÍCULO

A continuación haremos una reseña del principal factor de riesgo conocido asociado al cáncer vesicular, la litiasis vesicular. Discutiremos algunas consideraciones que podrían ser útiles en los programas actuales y futuros, enfocados en la prevención y el diagnósti-

co precoz del CVB. Para finalizar haremos mención a dos estudios sobre factores de riesgo y de susceptibilidad para CVB que están siendo implementados en Chile. Estos estudios se suman a reportes previos sobre caracterización epidemiológica y molecular de este tumor.

### LA LITIASIS VESICULAR

#### Magnitud del problema

La presencia de cálculos biliares es el principal factor de riesgo identificado para el CVB (10). En los Estados Unidos, alrededor de 10-15% de los hombres y 20-25% de las mujeres con más de 50 años tienen cálculos biliares, pero el riesgo de desarrollar cáncer de vesícula biliar absoluto es muy bajo (9-10). En Chile se ha comunicado que la prevalencia de cálculos biliares en las mujeres mayores de 50 años es de 60%, dos veces más alto que en la mayoría de las poblaciones (11). La prevalencia de los cálculos biliares es significativamente mayor en la población Mapuche, que en la población Hispana (12). La mayoría de cálculos biliares en la población chilena son cálculos de colesterol, relacionadas muy probablemente con susceptibilidad genética y factores de estilo de vida, en particular con algún tipo de dieta (no bien definida), con desarrollo de resistencia insulínica y sobrepeso/obesidad. En diversos estudios la presencia de cálculos biliares asociados a CVB se han reportado en un 60-95% de los casos (7). Estudios realizados en los países occidentales, que tienden a tener tasas más bajas de incidencia de CVB, han demostrado que los cálculos de colesterol representan aproximadamente el 80% a 90% de todos los cálculos en el mundo occidental (13, 14). En un estudio reciente en Shanghai, se estimó que el 80% (95% CI 75-84%) de los cánceres de la vesícula biliar puede atribuirse a cálculos biliares (10) y que estos cálculos generaban un riesgo 24 veces mayor a desarrollar cáncer de la vesícula biliar (10).

### MECANISMO DE LA CARCINOGENESIS ASOCIADA A LITIASIS VESICULAR

Aunque los cálculos biliares sistemáticamente se han vinculado al cáncer de la vesícula biliar, no están claros los mecanismos subyacentes involucrados. No obstante se ha sugerido que la inflamación crónica generada por la presencia de cálculos biliares y bilis litogénica, desempeña un papel importante en la carcinogénesis biliar. El estrés oxidativo generado por la liberación de radicales libres, con las consiguientes alteraciones epigenéticas y potencial inactivación de mecanismos reparadores del ADN, con la subsiguiente acumulación de alteraciones genéticas, son una buena alternativa para explicar el proceso carcinogénico de la vesícula biliar (15). Más aun, en el estudio realizado en Shanghai en el año 2005, se mostró que la historia de inflamación de la vesícula biliar se asoció con mayor riesgo de CVB (16), mientras que el uso de antiinflamatorios no esteroideos (AINE) se asoció a una reducción del riesgo (17). Algunas variantes de genes implicados en la inflamación, incluyendo PTGS2, IL8 y IL10, se han asociado también con mayor riesgo de cáncer de vías biliares (18). Al

igual que la obesidad, el síndrome metabólico se asoció con un mayor riesgo de desarrollar CVB (16, 19).

### GENES ASOCIADOS A LITIASIS

El campo de la epidemiología genética ha evolucionado rápidamente en los últimos años, actualmente se estima que aproximadamente entre un 25 a 50% del riesgo de desarrollar colelitiasis puede estar genéticamente determinado (20). La enfermedad litiasica por cálculos de colesterol (y por ende CVB) es sin duda multifactorial y existen subgrupos de pacientes con diferentes mecanismos patogénicos. Así, se han identificado alteraciones monogénicas de rara ocurrencia en la población que generan elevado riesgo a desarrollar litiasis vesicular (genes ABCB4, ABCB11, CYP7A1, ApoB). Sin embargo, al igual que otras enfermedades metabólicas complejas, los determinantes genéticos de la enfermedad litiasica (y CVB) son probablemente multigénicos (21, 22). Mediante estudios de GWAS ("genome-wide association studies"), utilizando cohortes expandidas de casos y controles y técnicas de tamizaje genómico total, se han podido identificar las primeras determinantes genéticas de la litiasis vesicular (20, 23, 24). Una variante genética única en el primer exón del gen ABCG8, denominada ABCG8-D19H, se asocia con un riesgo 3 y 7 veces mayor para la presencia de litiasis, cuando un sujeto es heterocigoto u homocigoto para esta variante, respectivamente. Esto ocurre tanto en poblaciones alemanas, chilenas, del este de Europa y Asiáticas (20, 23). Este hallazgo es coherente con los mecanismos patogénicos de la enfermedad, ya que se sabe que el gen ABCG8 se expresa en la membrana canalicular de los hepatocitos y en el intestino delgado y actúa en forma combinada con otro gen homólogo ABCG5, facilitando la secreción de colesterol hacia la bilis o hacia el lumen intestinal (25). Se postula que esta variante de riesgo ABCG819H generaría una ganancia de función de la proteína, incrementando en forma sostenida la secreción biliar de colesterol, favoreciendo de esta forma la generación de litiasis biliar de colesterol (20, 23).

### GENES ASOCIADOS A CVB

Es importante destacar que en estudios más recientes, esta misma variante ha demostrado estar asociada también a mayor riesgo de CVB, lo más probable, que sea en el contexto de litiasis vesicular. Esto ha sido sugerido en estudios de India y Asia, como también en un relevante estudio en población Danesa (26-28). En este último estudio se sugiere que esta única variante pudiera ser responsable de al menos el 25% de la incidencia de CVB. Estos hallazgos permiten ser optimistas en relación a la utilidad práctica de conocer la presencia de una variable de riesgo en poblaciones o grupos susceptibles, donde sería posible focalizar esfuerzos de prevención primaria por ejemplo con priorización de colecistectomía preventiva a aquellas personas con una variante de riesgo.

Un segundo estudio relevante recientemente publicado, demostró que la variante genética que determina síndrome de Gilbert se asocia

a niveles de bilirrubina plasmática, UGT1A1, es una determinante de riesgo para litiasis vesicular de colesterol en el hombre, pero no en la mujer (población alemana y replicada en cohorte chilena y Argentina) (29). Por ahora desconocemos si esta variante se asocia a riesgo de CVB. Recientemente, una cantidad creciente de estudios genéticos han sugerido que el riesgo de CVB puede estar vinculado a variantes genéticas en genes involucrados en vías de inflamación, reparación del ADN, metabolismo de los lípidos y señalización de hormonas sexuales (18). Específicamente, la variante Ex10 + 837TC (rs5275) en PTGS2 (30), el gen que codifica la enzima ciclooxigenasa-2 (COX-2), que participa en respuestas inflamatorias relacionadas con prostaglandina, se asoció con mayor riesgo de desarrollar CVB. También se ha encontrado un mayor riesgo de CVB con variantes del gen del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), para el cáncer de las vías biliares con un haplotipo de IL8RB y para los cálculos biliares con IL8, IL8RB, RNASEL y variantes NOS2 (18). Sin embargo estos estudios se realizaron con grupos pequeños de casos y requieren ser replicados para confirmar su relevancia en el riesgo de desarrollar CVB.

### LITIASIS Y CVB

El 2 a 3% de los pacientes con colelitiasis sintomática en Chile tiene CVB al momento de la colecistectomía (3, 31, 32). Cuando los cálculos son únicos, la presencia de un cálculo vesicular grande, >3cm, comparados con aquellos <1cm, incrementa en 9 veces el riesgo a desarrollar CVB. En el contexto de colelitiasis múltiple, recientemente se ha demostrado que, el volumen de los cálculos y no el tamaño, se correlaciona con riesgo de CVB. Así, volúmenes de cálculos de 6, 8 y 10 ml confieren riesgo mayor para CVB de 5, 7 y 11 veces respectivamente (33). Tanto el tamaño como el volumen de los cálculos con seguridad representan indicadores del tiempo de evolución de la enfermedad vesicular en los pacientes. Cabe destacar que en Chile, a diferencia de países desarrollados, el 75% de los casos la enfermedad se asocia a cálculos múltiples (12). El grosor de la pared vesicular como variable independiente no parece asociarse a CVB, pero sí algunos otros aspectos ecográficos específicos de la pared vesicular (34). Esta información es relevante, ya que su evaluación sistemática durante los estudios diagnósticos ecográficos permitiría identificar a pacientes litiasicos de mayor riesgo para CVB. Sin embargo, el análisis de estas variables no son incluidas en los estudios ecográficos de rutina en la práctica médica actual.

### PREVENCIÓN DEL CVB: ROL DE LA COLECISTECTOMÍA EN COLELITIASIS

En teoría el CVB es completamente prevenible mediante colecistectomía oportuna electiva en individuos de alto riesgo (portadores de colelitiasis en riesgo de CVB). El MINSAL ha reconocido el problema y por ello a fines del año 2007 incluyó dentro del programa GES-AUGE (Garantías Explícitas en Salud) la colecistectomía priorizada para pacientes con colelitiasis sintomáticas y en edades de 35 a 49 años.

([http://www.gobiernodechile.cl/plan\\_auge/que\\_garantiza31.asp](http://www.gobiernodechile.cl/plan_auge/que_garantiza31.asp)).

Sin embargo, esta costosa intervención genera tensión en los sistemas de salud y esta estrategia no necesariamente logrará el objetivo de disminuir en forma significativa las tasas de mortalidad por CVB en la mujer chilena.

Se ha estimado que en Chile existen en la actualidad más de 1.200.000 personas con colelitiasis. Un 50% de ellas son o serán sintomáticas en algún momento de sus vidas y requerirán de una colecistectomía (32). Si consideramos que 2 a 3% de los pacientes con colelitiasis sintomática tienen o desarrollarán CVB (3, 35), debemos esperar 12000 a 18000 personas con CVB en los próximos años. Es importante destacar que desconocemos cual es el riesgo de CVB en los sujetos con colelitiasis asintomática en nuestro medio y por lo tanto, cual es la conducta que debemos tener con ellos. Casi toda la información disponible hasta la fecha proviene de estudios en casos sintomáticos. Si pensamos que el proceso inflamatorio es un evento importante en la carcinogénesis, se podría asumir que la ausencia de sintomatología va acompañada de menor inflamación, debido a menor cantidad de episodios agudos que conllevan por tanto, menor daño epitelial y menor intensidad en los procesos de reparación tisular y regeneración epitelial que en los casos sintomáticos y por tanto a menor riesgo carcinogénico. En países desarrollados las evidencias clínicas y guías clínicas son claras en sugerir una conducta expectante en personas con colelitiasis asintomática (21), pero esta conducta es aún controversial en países como el nuestro con elevadas tasas de mortalidad por CVB (36, 37). Es evidente que en este contexto, los sistemas de salud pública en países con esta realidad epidemiológica no pueden proyectar efectuar decenas de miles de colecistectomías anualmente. Con las tasas actuales de colecistectomías en Chile de ~30.000 por año (32) ([www.minsal.cl](http://www.minsal.cl)), se estima que se evitan entre 300 y 900 CVB anualmente. Incrementando en 12.500 las colecistectomías anuales en pacientes con colelitiasis sintomática no seleccionados, se evitarían ~150 casos adicionales de CVB, sin un impacto mayor en las tasas de mortalidad por CVB (38, 39). Se ha estimado que sería necesario incrementar en al menos 3 a 4 veces el número de colecistectomías que se efectúan en Chile anualmente para llevar las tasas de mortalidad por este cáncer a estándares aceptables. Es una realidad que las tasas de colecistectomías actuales en Chile están por debajo de estándares internacionalmente aceptados, y que para alcanzar estándares europeos por ejemplo, se requeriría incrementar en 2 veces las tasas de colecistectomías. Las tasas de colecistectomías no se han modificado sustancialmente en las 2 décadas pasadas, lo que no sorprende dado que el programa GES actual, no está destinado específicamente a incrementar las tasas de colecistectomías sino que a priorizarlas en un grupo etario específico. Tampoco está orientado al grupo donde es esperable la mayor tasa de casos de cánceres en etapas incipientes, que son justamente las mujeres mayores de 50 años. En la opinión de los autores, se avanzaría en forma más eficiente en la prevención del CVB en Chile, reconociendo factores de riesgo adicionales específicos, fáciles de evaluar en la población y factibles de implementar como exámenes de tamizaje para priorizar en forma más

eficiente las intervenciones (colecistectomía electiva-dirigida) y ampliando la edad a lo menos hasta los 69 años de edad para disminuir las tasas de mortalidad por CVB en Chile.

## **NUEVOS ESTUDIOS ORIENTADOS A IDENTIFICAR MARCADORES DE RIESGO DE CVB EN CHILE**

Iniciativa Chile-NCI: En junio de 2009 Chile y el NCI (Nacional Cancer Institute, US) firmaron una carta de intención que estableciera las bases de cooperación entre Chile y Estados Unidos para el estudio de cánceres prioritarios en nuestra población.

(<http://www.cancer.gov/aboutnci/ncicancerbulletin/archive/2009/063009/page5>).

Los factores etiológicos del CVB en Chile y el desarrollo de estrategias de prevención son una de las prioridades de esta Asociación. Como resultado de esta iniciativa, en diciembre de 2009, el NCI a través de su oficina de estudio del cáncer para América Latina, en conjunto con el Gobierno de Chile, organizaron un taller de CVB en Chile para revisar el estado actual de esta enfermedad en nuestro país. Como resultado de este taller se propuso avanzar en el desarrollo de un estudio epidemiológico multidisciplinario a gran escala con el objetivo de avanzar en el entendimiento de la etiología de la enfermedad y esclarecer las razones de las actuales altas tasas de cáncer CVB en Chile, especialmente en las mujeres. Se espera que los datos epidemiológicos que se generen permitan identificar algunos factores de riesgo adicionales que se incluirán en estrategias específicas para la detección precoz y prevención.

Inicialmente se ha aprobado un estudio piloto que comenzará en septiembre de este año, el cual está liderado por CF para estudiar la factibilidad técnica en la aplicación de los instrumentos que se aplicarían en el estudio y el índice de reclutamiento de pacientes en 4 centros seleccionados en la Región Metropolitana y II, VIII, IX regiones. Los resultados del estudio piloto tendrían un impacto crítico sobre la decisión del NCI para apoyar el desarrollo de un estudio a gran escala en Chile que tendría gran visibilidad y alto impacto y requeriría recursos substanciales del NCI y del gobierno de Chile. Si los fondos son otorgados, se incluirán 7 centros adicionales a lo largo de Chile para completar en un periodo de 5 años el reclutamiento de 4000 pacientes con CVB con sus respectivos controles.

Iniciativa Chile-Alemania: En el año 2009 se comenzó a implementar un estudio a nivel nacional tendiente a identificar determinantes genéticos de litiasis vesicular y CVB en la población chilena. Esta iniciativa ha sido posible gracias a la estrecha colaboración con la Universidad de Kiel, Alemania (Dr. Jochen Hampe), y la lidera JFM. Junto a este grupo en Alemania se ha participado en la identificación de los primeros determinantes de colelitiasis (ABCG8d19H y UGT1A1) (23, 29). Hasta la fecha se ha logrado avanzar con el reclutamiento sistemático de sujetos controles alitiásicos, litiásicos y con CVB en algunos centros de

Santiago y en Temuco (UFRO). Sin embargo estos estudios requieren la inclusión de al menos 2000 casos (y respectivos controles) por lo que requiere un apoyo económico mayor, lo que es difícil de obtener en nuestro medio por carencia de fondos concursables locales para este tipo de iniciativas. En el año 2010 se generó una oportunidad valiosa al generarse por primera vez, un concurso bilateral CONICYT y DFG (Deutsche Forschungs Gemeinschaft, de Alemania). Hemos aprovechado esta oportunidad y un proyecto concreto está en etapa de evaluación para su financiamiento. En esta iniciativa se han sumado investigadores de diferentes regiones del país (Región de Los Ríos, IX, VIII, VII y RM). Seremos informados del resultado de este concurso en julio del presente año, y estamos optimistas. El objetivo específico de esta propuesta es identificar determinantes genéticos de CVB privativos de la población chilena, y estudiar si los determinantes genéticos que se identifiquen en nuestra población de mayor riesgo serán replicados en otras poblaciones como Alemania e India (esperamos se sumen otras poblaciones de riesgo). De ser aprobada esta iniciativa, tendremos resultados concretos a fines del 2013, y se aplicarían las últimas tecnologías disponibles para estudios de genómica total (GWAS). La identificación de determinantes genéticos específicas de CVB (además de ABCG19H) permitiría junto a variables clínicas, generar un índice de riesgo que sería evaluado como estrategia de identificación de casos de alto riesgo en la población para efectuar intervenciones de prevención primaria de CVB más efectivas (colecistectomía dirigida).

Como se puede apreciar, las iniciativas con NCI y Alemania son complementarias y confluyen para incrementar las posibilidades de concretar a la brevedad posible el desarrollo los estudios necesarios ten-

dientes a avanzar en el conocimiento de los mecanismos patogénicos del CVB en nuestra población.

Estos estudios permitirán además responder adecuadamente la pregunta sobre la importancia de la participación de agentes infecciosos como *Salmonella typhi* y *Helicobacter pylori* en la patogenia del CVB. Además, permitirán identificar factores genéticos y epigenéticos de susceptibilidad a desarrollar esta letal enfermedad, permitiendo valorar el impacto de la presencia de factores clásicamente considerados como factores de riesgo en la carcinogénesis vesicular como son la obesidad, diabetes, síndrome metabólico, factores hormonales y la participación de metales pesados y exposición a carcinógenos que incrementarían el riesgo a desarrollar esta neoplasia.

En síntesis, en la actualidad no existen buenas herramientas que permitan detectar precozmente el CVB siendo la colecistectomía preventiva el único procedimiento capaz de disminuir el número de carcinomas avanzados y la mortalidad por CVB en Chile. Sin embargo esta alternativa es poco eficiente si se aplica en forma no dirigida a la población en países de tan elevada prevalencia de litiasis y CVB como ocurre en Chile. Se requiere con urgencia identificar nuevas herramientas factibles de implementar a gran escala y que sean costo-efectivas, tendientes a identificar dentro de la población, a los grupos o personas específicas del más alto riesgo, para convertir a la colecistectomía preventiva en una política de salud pública efectiva en la prevención del CVB y disminuir pronto la elevada mortalidad por CVB en Chile.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Andia KM, Gederlini GA, Ferreccio RC. Gallbladder cancer: trend and risk distribution in Chile.. *Rev Med Chil.* 2006;134(5):565-74.
2. Dixon E, Vollmer CM, Jr., Sahajpal A, Catral M, Grant D, Doig C, et al. An aggressive surgical approach leads to improved survival in patients with gallbladder cancer: a 12-year study at a North American Center. *Ann Surg.* 2005;241(3):385-94.
3. Lazcano-Ponce EC, Miquel JF, Muñoz N, Herrero R, Ferrecio C, Wistuba, II, et al. Epidemiology and molecular pathology of gallbladder cancer. *CA Cancer J Clin.* 2001;51(6):349-64.
4. Randi G, Franceschi S, La Vecchia C. Gallbladder cancer worldwide: geographical distribution and risk factors. *Int J Cancer.* 2006 1;118(7):1591-602.
5. Kiran RP, Pokala N, Dudrick SJ. Incidence pattern and survival for gallbladder cancer over three decades--an analysis of 10301 patients. *Ann Surg Oncol.* 2007;14(2):827-32.
6. Barakat J, Dunkelberg JC, Ma TY. Changing patterns of gallbladder carcinoma in New Mexico. *Cancer.* 2006 15;106(2):434-40.
7. Hsing AW RA DS, Fraumeni JF, Jr. Biliary Tract Cancer. In: *DSaJF J*, ed. *Epidemiology and Prevention.* New York: Oxford University 2006:787-800.
8. Gabrielli M, Hugo S, Domínguez A, Baez S, Venturelli A, Puga M, et al. Mortality due to gallbladder cancer: retrospective analysis in three Chilean hospitals.. *Rev Med Chil.* 138(11):1357-64.
9. Bertran E, Heise K, Andia ME, Ferreccio C. Gallbladder cancer: incidence and survival in a high-risk area of Chile. *Int J Cancer.* Nov 15;127(10):2446-54.
10. Hsing AW, Gao YT, Han TQ, Rashid A, Sakoda LC, Wang BS, et al. Gallstones and the risk of biliary tract cancer: a population-based study in China. *Br J Cancer.* 2007 Dec 3;97(11):1577-82.
11. Fernandez M, Csendes A, Yarmuch J, Diaz H, Silva J. Management of common bile duct stones: the state of the art in 2000. *Int Surg.* 2003;88(3):159-63.
12. Miquel JF, Covarrubias C, Villaroel L, Mingrone G, Greco AV, Puglielli L, et al. Genetic epidemiology of cholesterol cholelithiasis among Chilean Hispanics, Amerindians, and Maoris. *Gastroenterology.* 1998 Oct;115(4):937-46.
13. Amigo L, Zanlungo S, Mendoza H, Miquel JF, Nervi F. Risk factors and pathogenesis of cholesterol gallstones: state of the art. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 1999;3(6):241-6.

14. Portincasa P, Moschetta A, Calamita G, Margari A, Palasciano G. Pathobiology of cholesterol gallstone disease: from equilibrium ternary phase diagram to agents preventing cholesterol crystallization and stone formation. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord*. 2003;3(1):67-81.
15. Nath G, Gulati AK, Shukla VK. Role of bacteria in carcinogenesis, with special reference to carcinoma of the gallbladder. *World J Gastroenterol*. Nov 21;16(43):5395-404.
16. Andreotti G HA, Liu E, Gao YT, Safaeian M, Rashid A, et al. Medical history and the risk of biliary tract cancers and stones in Shanghai, China: implications for a role of inflammation. *Int J Cancer*. 2011;In press.
17. Liu E, Sakoda LC, Gao YT, Rashid A, Shen MC, Wang BS, et al. Aspirin use and risk of biliary tract cancer: a population-based study in Shanghai, China. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005;14(5):1315-8.
18. Hsing AW, Sakoda LC, Rashid A, Andreotti G, Chen J, Wang BS, et al. Variants in inflammation genes and the risk of biliary tract cancers and stones: a population-based study in China. *Cancer Res*. 2008 1;68(15):6442-52.
19. Hsing AW, Sakoda LC, Rashid A, Chen J, Shen MC, Han TQ, et al. Body size and the risk of biliary tract cancer: a population-based study in China. *Br J Cancer*. 2008 2;99(5):811-5.
20. Grunhage F, Acalovschi M, Tirziu S, Walier M, Wienker TF, Ciocan A, et al. Increased gallstone risk in humans conferred by common variant of hepatic ATP-binding cassette transporter for cholesterol. *Hepatology*. 2007;46(3):793-801.
21. Lammert F, Miquel JF. Gallstone disease: From genes to evidence-based therapy. *J Hepatol*. 2008 6.
22. Paigen B, Carey M.C. Gallstones. In: King RA, Rotter, J.I., Motulsky, A.G., ed. *Genetic basis of common diseases*. New York: Oxford University Press 2002:298-335.
23. Buch S, Schafmayer C, Volzke H, Becker C, Franke A, von Eller-Eberstein H, et al. A genome-wide association scan identifies the hepatic cholesterol transporter ABCG8 as a susceptibility factor for human gallstone disease. *Nat Genet*. 2007;39(8):995-9.
24. Puppala S, Dodd GD, Fowler S, Arya R, Schneider J, Farook VS, et al. A genomewide search finds major susceptibility Loci for gallbladder disease on chromosome 1 in mexican americans. *Am J Hum Genet*. 2006;78(3):377-92.
25. vanBerge-Henegouwen GP, Venneman NG, Portincasa P, Kusters A, van Erpecum KJ, Groen AK. Relevance of hereditary defects in lipid transport proteins for the pathogenesis of cholesterol gallstone disease. *Scand J Gastroenterol Suppl*. 2004(241):60-9.
26. Stender S, Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. Sterol transporter adenosine triphosphate-binding cassette transporter G8, gallstones, and biliary cancer in 62,000 individuals from the general population. *Hepatology*;53(2):640-8.
27. Srivastava A, Tulsyan S, Pandey SN, Choudhuri G, Mittal B. Single nucleotide polymorphism in the ABCG8 transporter gene is associated with gallbladder cancer susceptibility. *Liver Int*. 2009;29(6):831-7.
28. Xu HL, Cheng JR, Andreotti G, Gao YT, Rashid A, Wang BS, et al. Cholesterol metabolism gene polymorphisms and the risk of biliary tract cancers and stones: a population-based case-control study in Shanghai, China. *Carcinogenesis*. 32(1):58-62.
29. Buch S, Schafmayer C, Volzke H, Seeger M, Miquel JF, Sookoian SC, et al. Loci from a genome-wide analysis of bilirubin levels are associated with gallstone risk and composition. *Gastroenterology*;139(6):1942-51 e2.
30. Sakoda LC, Gao YT, Chen BE, Chen J, Rosenberg PS, Rashid A, et al. Prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (PTGS2) gene polymorphisms and risk of biliary tract cancer and gallstones: a population-based study in Shanghai, China. *Carcinogenesis*. 2006;27(6):1251-6.
31. Wistuba II, Gazdar AF. Gallbladder cancer: lessons from a rare tumour. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(9):695-706.
32. Perez-Ayuso RM, Hernandez V, Gonzalez B, Carvacho C, Navarrete C, Alvarez M, et al. Natural history of cholelithiasis and incidence of cholecystectomy in an urban and a Mapuche rural area. *Rev Med Chil*. 2002;130(7):723-30.
33. Roa I, Ibacache G, Roa J, Araya J, de Aretxabala X, Munoz S. Gallstones and gallbladder cancer-volume and weight of gallstones are associated with gallbladder cancer: a case-control study. *J Surg Oncol*. 2006 15;93(8):624-8.
34. Wibbenmeyer LA, Sharafuddin MJ, Wolverson MK, Heiberg EV, Wade TP, Shields JB. Sonographic diagnosis of unsuspected gallbladder cancer: imaging findings in comparison with benign gallbladder conditions. *AJR Am J Roentgenol*. 1995;165(5):1169-74.
35. Roa I, Araya JC, Villaseca M, De Aretxabala X, Riedemann P, Endoh K, et al. Preneoplastic lesions and gallbladder cancer: an estimate of the period required for progression. *Gastroenterology*. 1996;111(1):232-6.
36. Patino JF, Quintero GA. Asymptomatic cholelithiasis revisited. *World J Surg*. 1998;22(11):1119-24.
37. Gupta SK, Shukla VK. Silent gallstones: a therapeutic dilemma. *Trop Gastroenterol*. 2004;25(2):65-8.
38. Chianale J, del Pino G, Nervi F. Increasing gall-bladder cancer mortality rate during the last decade in Chile, a high-risk area. *Int J Cancer*. 1990 15;46(6):1131-3.
39. Chianale J, Valdivia G, del Pino G, Nervi F. Gallbladder cancer mortality in Chile and its relation to cholecystectomy rates. An analysis of the last decade. *Rev Med Chil*. 1990;118(11):1284-8.

Los autores declaran no tener conflictos de interés, en relación a este artículo.